

(Aus der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel)

Physikalisch-chemische Untersuchungen zur Wirkung von Desinfizienzien

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

G. Emanuel Beck, med. pract.
von Basel

Basel 1948



VERLAG VON S. KARGER IN BASEL

Die Arbeit wurde ausgeführt auf Anregung und unter Leitung von
Herrn Professor Dr. Rolf Meier.

Von der Medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von
Herrn Prof. Dr. Rolf Meier am 14. Mai 1947.



Sonderdruck aus „Schweiz. Zeitschrift für Pathologie und Bakteriologie“
Vol. XI, Fasc. 1 (1948)

Physikalisch-chemische Untersuchungen zur Wirkung von Desinfizienzien.

Als Wirkungsmechanismus von Arzneimitteln kommen vor allem zwei Vorgänge in Frage:

1. eine chemische Reaktion des Pharmakon mit Bestandteilen der Zelle;
2. physikalisch-chemische Beziehungen des Pharmakon zur Zelle.

In den letzten Jahren haben besonders die sogenannten Verdrängungstheorien die Wirkung von Desinfizienzien und von Chemotherapeutika zu klären versucht.

Ein Zusammenhang zwischen der Wirkung dieser Arzneimittel und ihrer Adsorbierbarkeit wurde schon in verschiedenen Arbeiten untersucht (*Süpfle und Müller*, 1; *Herzog und Betzel*, 2; *Bechhold und Reiner*, 3; *Hartmann und Druey*, 4; *Andersen*, 5; *Julius und Winkler*, 6).

Diese Untersuchungen sind insofern erweiterungsbedürftig, ehe die Frage über die Rolle der Adsorption am Mikroorganismus beantwortet werden kann, als einerseits physikalisch und anderseits chemisch verschiedene Adsorbenzien berücksichtigt werden müssen.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der desinfizierenden Wirkung und der Reaktion einiger Desinfektionsmittel mit verschiedenen Adsorbenzien gefunden werden kann. Es wurden folgende Präparate zweier Desinfektionsmittelgruppen angewandt:

I. Organische Quecksilberverbindungen.

1. Phenylquecksilberborat (Merfen): Org. Hg-Verb. I;

Eingegangen am 8. 7. 1947.

2. Aethyl-mercuri-mercapto-aethyl-trimethyl-ammonium-methosulfat: Org. Hg-Verb. II;
3. Aethyl-mercuri-mercapto-amidin-hydrochlorid: Org. Hg-Verb. III.

II. Invertseifen.

4. Lauryl-methyl-phenyl-trimethyl-ammonium-methosulfat (Desogen): Invertseife I;
5. Phenoxy-aethyl-dimethyl-dodecyl-ammoniumbromid: Invertseife II;
6. Phenoxy-aethyl-dimethyl-decyl-ammoniumbromid: Invertseife III.

Mit diesen sechs Desinfizienzien wurden zuerst Adsorptionsversuche an einem chemisch indifferenten Adsorbens, dem Kohlepräparat Norit, ausgeführt.

Methode: Je 100 ccm neutraler Desinfizienslösung von verschiedener Konzentration werden mit 1 g Norit eine halbe Stunde geschüttelt. Das Norit wird abzentrifugiert, und in der überstehenden Flüssigkeit wird die noch vorhandene Konzentration an Desinfizienz bestimmt durch Verdünnungsreihen bis zur minimalen, das Wachstum von Colibazillen hemmenden Konzentration, deren effektiver Wert jeweilen durch eine Verdünnungsreihe aus bekannter Konzentration ermittelt wird. Die Differenz aus der bekannten Ausgangskonzentration und aus der gefundenen Konzentration nach der Adsorption gibt die adsorbierte Menge Desinfiziens.

Bestimmung der minimalen, das Wachstum von Colibazillen hemmenden Konzentration:

Es wird das Salz-Glukose-Medium für Colibazillen nach *Harris* und *Kohn* mit dem Aminosäuren- und Watteabkochungszusatz nach *Allgöwer* (7) in doppelter Konzentration hergestellt. (In dieser Arbeit als SGAW-Medium bezeichnet.)

NaCl	24,0 g
MgSO ₄	1,2 g
KH ₂ PO ₄	12,0 g
(NH ₄) ₂ HPO ₄	12,0 g
Glukose	12,0 g
Aqua dest. ad	750,0 ccm
Aqua font. gekocht ad	1500,0 ccm
d-l-Leucin	1000,0 mg
d-l-Phenylalanin	480,0 mg
d-l-Asparaginsäure	1000,0 mg
Watteabkochung	120,0 ccm
Aqua dest. ad	1500,0 ccm

Das SGAW-Medium wird halbstündlich an drei aufeinanderfolgenden Tagen im Dampftopf sterilisiert.

Auf einem Schrägagar gezüchtete Colibazillen werden 12 Stunden vor Gebrauch in eine Glukose-Eier-Bouillon abgeimpft und bei 37 Grad C bebrütet. Diese beimpfte Bouillon wird mit dem doppelt konzentrierten SGAW-Medium 800mal verdünnt und so als Inokulat gebraucht. Je 5 ccm des Inokulats werden zu 5 ccm der beiden Verdünnungsreihen im Adsorptionsversuch zugegeben und 12 Stunden bei 37 Grad C bebrütet. Die 10 ccm Inokulat und Desinfizienslösung sind bei gehemmtem Colibazillenwachstum eine klare Lösung, von der die Trübung durch das Bazillenwachstum deutlich unterschieden werden kann.

TABELLE I.

Desinfiziens	Minimal wirksame Konzentration für	
	Colibazillen	Hefezellen
Org. Hg-Verb. I	$3 \cdot 10^{-8}$	10^{-7}
Org. Hg-Verb. II	10^{-8}	$3 \cdot 10^{-8}$
Org. Hg-Verb. III	10^{-6}	$3 \cdot 10^{-6}$
Invertseife I	10^{-5}	10^{-5}
Invertseife II	$5 \cdot 10^{-6}$	10^{-5}
Invertseife III	$2 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$

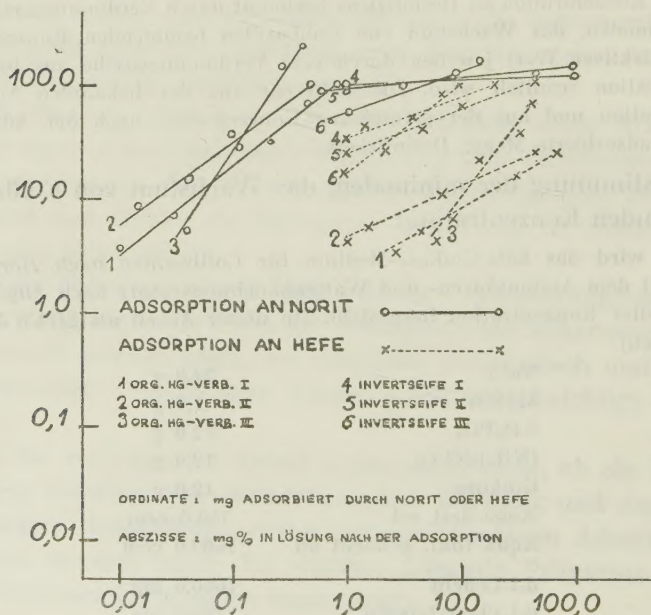


Fig. 1.

Tabelle I gibt die mittleren, minimalen, das Wachstum von Colibazillen hemmenden Konzentrationen der Desinfiziens an, während Figur 1 deren Adsorptionsisothermen zeigt.

Eine Adsorptionsisotherme nach *Freundlich* (8) bezeichnet das Verhältnis zwischen adsorbierter Menge aus einer Lösung und deren Konzentration nach der Adsorption als eine parabolische Funktion. Diese stellt sich in bilogarithmischer Auftragung als eine Gerade dar.

Unter der Annahme, daß diese Geraden, die durch mehrere Punkte bestimmt wurden, beliebig verlängert werden dürfen — in Figur 1 nach links bis zu den Schwellenwerten der Desinfizienzien —, zeigt der Vergleich der Adsorptionsisothermen mit den bakteriostatischen Schwellenwerten folgendes:

1. Die Adsorbierbarkeit geht nicht parallel mit der Wirksamkeit. Die Schwellenwerte der hochwirksamen Quecksilberverbindungen werden schlechter adsorbiert als diejenigen der weniger wirksamen Invertseifen.
2. Die Adsorbierbarkeit innerhalb einer Substanzengruppe ist eventuell der Grund verschiedener quantitativer Wirksamkeit.

Die organischen Hg-Verbindungen II und III sind in ihrem chemischen Verhalten ähnlich und vergleichbar. Hg-Verbindungen wirken nach *Fildes* (9) dadurch, daß sie die SH-Gruppen eines essentiellen Metaboliten des Bakteriums blockieren und diesen so unwirksam machen; ob dies für organische Hg-Verbindungen der einzige Angriffspunkt ist, scheint nicht geklärt. Die org. Hg-Verbindung III ist zirka 100mal schwächer wirksam als die org. Hg-Verbindung II und wird auch in den niederen Konzentrationen schlechter adsorbiert. Ebenso wird die Invertseife III weniger adsorbiert als ihre homologe Verbindung, die Invertseife II, und ist auch schwächer wirksam als diese.

Andersen (5) zeigte, daß Sulfathiazol und Sulfapyridin besser an Tierkohle und an Plasma adsorbiert werden als Sulfanilamid, und alle drei viel besser als Paraminobenzoesäure. Sulfathiazol und Sulfapyridin sind in vitro wirksamer als Sulfanilamid. Er erklärt dies mit *Freundlich* (8) dadurch, daß eine Substanz um so leichter eine andere ersetzen kann, je besser sie adsorbiert wird.

Julius und *Winkler* (6) ließen verschiedene Sulfanilamide an einer Colibazillensuspension adsorbieren und kamen zu einer Reihe von abnehmender Adsorbierbarkeit dieser Sulfanilamide, der ihre Wirkungsunterschiede in vitro entsprechen. Die Paraminobenzoesäure wird am besten adsorbiert.

Adsorptionsversuche mit andern, chemisch indifferenten Adsorbentien, wie Kaolin, den sauer adsorbierenden Frankonit und

Floridin, den basisch adsorbierenden Permutit und Aluminium oxyd. gaben keine spezifischen Ergebnisse. Alle diese Adsorbentien adsorbieren dem Norit proportional schwächer.

In weiteren Versuchen wurde nun geprüft, ob ein Mikroorganismus auch als Adsorbens wirkt, oder ob sich hier das Gleichgewicht zwischen Desinfizienslösung und der durch die Zelle aufgenommenen Menge Desinfiziens in einem anderen Verhältnis einstellt. Als einfaches Beispiel eines Mikroorganismus wurden Hefezellen angewandt.

Methode: Frische Bäckerhefe wird 3mal in Aqua dest. gewaschen und auszentrifugiert. Beim drittenmal wird während 15 Minuten bei einer konstanten Tourenzahl zentrifugiert, wodurch ein vergleichbarer Preßzustand der Hefe erreicht wird. Mit dieser so gepreßten Hefe wird eine 2%ige Suspension in Aqua dest. hergestellt.

50 ccm der 2%igen Hefesuspension werden zu je 50 ccm Desinfizienslösung gebracht und eine halbe Stunde geschüttelt. Die Hefe wird abzentrifugiert und in der überstehenden Flüssigkeit analog dem Noritversuch die Konzentration an Desinfiziens und dadurch die von der Hefe aufgenommene Menge Desinfiziens bestimmt.

In Tabelle I sind die mittleren, minimalen, das Wachstum von Hefezellen hemmenden Konzentrationen angegeben, die wie folgt bestimmt wurden:

Methode: Frische Bäckerhefe wird auf folgendem Schrägagar gezüchtet:

Glukose	0,5 ‰
Asparaginsäure	0,5 ‰
Bierwürze	10,0 ‰
Agar	2,0 ‰

Die Schrägagar werden während 24 Stunden bei 29 Grad C bebrütet und können hernach bei Zimmertemperatur gehalten werden.

Die Desinfizienzien werden in folgender Nährlösung gelöst:

Glukose	10,0 ‰
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,6 ‰
KH_2PO_4	1,5 ‰
NaCl	0,5 ‰
CaCl_2	0,4 ‰
FeCl_3 (1 ‰)	0,5 ccm/l
Bierwürze	3,0 ‰

Es werden Verdünnungsreihen à je 4 ccm hergestellt. Vom Schrägagar wird 1 Öse pro 60 ccm Nährlösung überimpft, je 4 ccm zu je 4 ccm der Desinfizienslösungen zugegeben und bei 29 Grad C während 24 Stunden bebrütet. Das Wachstum von Hefe ist beim Schütteln der Ansätze durch eine starke Trübung leicht von den klaren Lösungen bei gehemmttem Wachstum zu unterscheiden.

Der Vergleich der Kurven für Hefe in Figur 1 und der minimal wirksamen Konzentrationen für Hefe in Tabelle I zeigt folgendes:

1. Das Verhältnis zwischen der durch die Hefe aufgenommenen Menge und der in Lösung bleibenden Konzentration der Desinfizienzien ist eine parabolische Funktion, d. h. es handelt sich um eine physikalisch-chemische Adsorption.
2. Die Adsorption an Hefezellen ist von der Adsorption an Norit verschieden. Adsorptionsmodellversuche an Kohlepräparaten können also nicht ohne weiteres auf Mikroorganismen übertragen werden.
3. Die Wirksamkeit der untersuchten Desinfizienzien auf Hefe ist nicht abhängig von ihrer Adsorbierbarkeit an Hefe.
4. Die hochwirksame Hg-Verbindung II wird in niederen Konzentrationen besser adsorbiert als die weniger wirksame Hg-Verbindung III, und ebenso die wirksamere Invertseife II besser als die weniger wirksame Invertseife III.

Von *Baker, Harrison und Miller* (10) wurde beschrieben, daß die bakteriostatische Wirkung von Invertseifen durch Phosphorlipoide in spezifischer Weise gehemmt wird. Da solche antagonistischen Reaktionen meist so weiter gedeutet werden, daß der Angriffspunkt am Bakterium eine ähnliche Reaktion darstellen soll, schien es besonders interessant, festzustellen, ob die Reaktion Invertseife-Phosphorlipoid analog einer Adsorption verlaufe, oder ob sich ein anderes Reaktionsverhalten zeigt, das möglicherweise einen Anhaltspunkt für eine spezifische Bindung der Invertseife durch das Phosphorlipoid ergibt.

Eine der Adsorption durch Norit und Hefe analoge Versuchsanordnung ließ sich nicht herstellen, da die wässrige Phase der Lipoidsuspension mit dem gelösten Desinfiziens sich nicht von der lipoiden Phase durch die zur Verfügung stehenden Mittel (Ultrafiltration) trennen ließ.

Methode: Als Phosphorlipoid wird sauerstofffreies **Mercksches** Eierlecithin angewandt. Es werden durch Schütteln mit der Schüttelmaschine täglich frische, wässrige Suspensionen hergestellt.

50 ccm Invertseife II von verschiedener Konzentration werden mit je 50 ccm einer 200 mg %, wässrigen Lecithinsuspension versetzt und eine halbe Stunde geschüttelt. Durch Verdünnungsreihen der Lecithin-Invertseifen-Gemische bis zu minimalen, das Wachstum von Colibazillen hemmenden Konzentrationen wird analog dem Noritversuch der Gehalt an freier, wirksamer Invertseife bestimmt, wodurch auch die durch das Lecithin aufgenommene und inaktivierte Menge Invertseife ermittelt werden kann.

Zum Vergleich wird in gleicher Weise die Aufnahme der org. Hg-Verbindung II durch Lecithin geprüft.

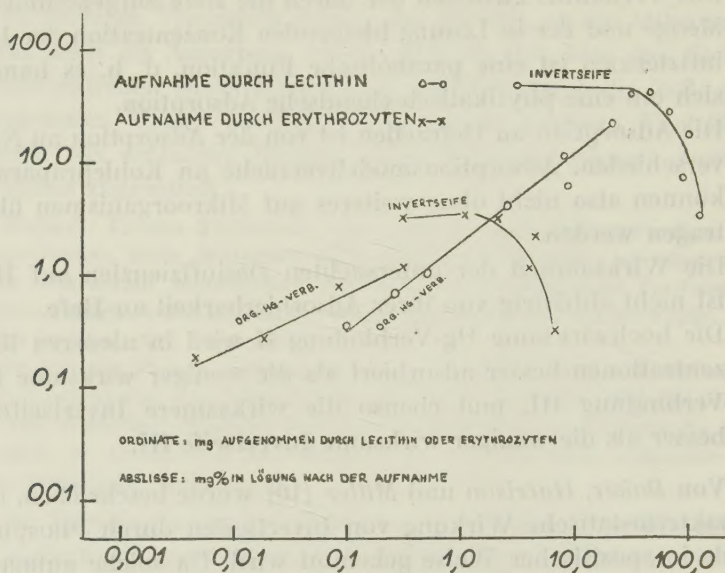


Fig. 2.

Aus Figur 2 ist ersichtlich:

1. Lecithin bindet die org. Hg-Verbindung II in Form einer parabolischen Funktion. Der Unterschied zur Adsorption mit Norit und mit der Hefe besteht darin, daß die Verbindung Lecithin-Quecksilberverbindung irreversibel ist. Dem steilen Kurvenverlauf entsprechend inhibiert Lecithin die Quecksilberverbindung wenig.
2. Die Bindung Invertseife-Lecithin kann nicht durch Adsorption erklärt werden.

Tabelle II gibt eine vergleichende Darstellung der antagonistischen Beeinflussung der Wirkung von Invertseife und organischer Quecksilberverbindung durch Lecithin.

Methode: Je 5 ccm Desinfiziens in steigender Konzentration gelöst, werden mit 5 ccm einer 200 mg % Lecithinsuspension und als Kontrolle mit 5 ccm Aqua dest. versetzt. Von den 10 ccm Desinfiziens mit Lecithin und Desinfiziens mit Aqua dest. werden 5 ccm zu 5 ccm doppelt konzentriertem, mit Colibazillen beimpftem SGAW-Medium gegeben und 12 Stunden bei 37 Grad C bebrütet.

TABELLE II.

	H ₂ O	Lecithin	10 ⁻³	Molares Verhältnis
	W	W	Tr	Desinf./Lecithin
Invertseife II				
10 ⁻⁵	+	+	+	1 : 50
3 · 10 ⁻⁵	0	+	+	1 : 20
10 ⁻⁴	0	+	+	1 : 5
3 · 10 ⁻⁴	0	+	+	1 : 2
10 ⁻³	0	0+	0+	2 : 1
3 · 10 ⁻³	0	0	0	5 : 1
10 ⁻²	0	0	0	20 : 1
Organische Quecksilberverbindung II				
10 ⁻⁸	+	+	+	1 : 50 000
3 · 10 ⁻⁸	0	+	+	1 : 20 000
10 ⁻⁷	0	0	+	1 : 5 000
3 · 10 ⁻⁷	0	0	+	1 : 2 000
Υ	Υ	Υ	Υ	Υ
10 ⁻²	0	0	+	20 : 1

W + oder 0 = Wachstum oder Hemmung von Colibazillen.

Tr. + oder 0 = Trübung durch die oder Lösung der Lecithinsusp.

Aus dieser vergleichenden Darstellung ist ersichtlich:

1. Die organische Quecksilberverbindung II wird nur in geringem Maße antagonistisch beeinflusst durch das Lecithin. Dies stimmt überein mit den Befunden von *Baker, Harrison* und *Miller* (10). Die Lecithinsuspension selbst bleibt unverändert, was auch schon *Porges* und *Neubauer* (11) gezeigt haben.
2. Die Invertseife wird durch Lecithin antagonistisch beeinflusst bis zu einem molaren Konzentrationsverhältnis 1 : 2. Beim Verhältnis 2 : 1 ist der antagonistische Effekt kaum mehr vorhanden, und zugleich beginnt sich die Lecithinsuspension zu klären, in eine klare, gelbliche Lösung. Lecithin wirkt also nur als Suspension antagonistisch zur Invertseife; sobald diese das Lecithin in Lösung bringt, ist keine Hemmung der Wirksamkeit mehr nachzuweisen. Die Klärung der Lecithinsuspension durch die Invertseife ist, nach den molaren Konzentrationsverhältnissen zu schließen, eine annähernd monomolekulare Reaktion.

Eine Klärung der Lecithinsuspension kann auch mit andern Substanzen erreicht werden, so mit hohen Konzentrationen von Rhodaniden, Jodiden, Bromiden und Nitriten, mit Saponin

(*Porges* und *Neubauer*, 11), mit gallensauren Salzen (*Long* und *Gephart*, 12) und mit der Chaulmoograsäure (*Valette*, *Cavier* und *Liber*, 13).

Andrerseits können nach *Bacq* (14) Invertseifen die Gelbbildung von Gelatine verhindern und den Eiter eines Pleurapunktaes homogenisieren, wobei das Anschwellen und Platzen der Eiterzelle beobachtet werden kann. Nach *Bacq* (14) und nach eigenen Beobachtungen wird auch das durch die Invertseife denaturierte Eiweiß bei einem Überschuß von Invertseife in Lösung gebracht.

Eine antagonistische Beeinflussung der bakteriostatischen Wirkung von Invertseifen kann, allerdings schwächer als mit *Lecithin*, mit andern Substanzen erreicht werden, so mit unwirksamen Invertseifen, mit Gallensäuren (*Baker*, *Harrison* und *Miller*, 10) und auch mit *Agar* (*Quisno*, *Gibby* und *Foter*, 15).

Da die Adsorptionsversuche mit der Hefe keine spezifische Reaktion ihrer Lipide mit der Invertseife erkennen ließen, wurde untersucht, ob Erythrozyten, deren Hülle aus Eiweiß und Lipoiden besteht, mit der Invertseife in irgendwie spezifischer Weise reagieren.

Methode: Durch Schlagen defibriniertes Rinderblut wird auszentrifugiert. Die Erythrozyten werden in 0,9 % NaCl-Lösung 3mal gewaschen und damit auf das 5fache Volumen gebracht. 10 ccm dieser Erythrozytensuspension werden zu 10 ccm Desinfizienslösung gegeben und eine halbe Stunde geschüttelt. Hierauf werden die Erythrozyten abzentrifugiert und in der überstehenden Flüssigkeit analog dem Noritversuch die Konzentration an Desinfiziens bestimmt, wodurch auch die durch die Erythrozyten aufgenommene Menge Desinfiziens gegeben ist.

Die Kurven, die in Figur 2 dargestellt sind, zeigen:

1. Die org. Hg-Verb. II wird durch die Erythrozyten in einem parabolischen Verhältnis aufgenommen, das also einer Adsorption entspricht.
2. Die Invertseife gibt mit den Erythrozyten einen dem *Lecithin* ähnlichen Kurvenverlauf. Während beim steilen Abfall der *Lecithin*kurve dieses in Lösung geht, tritt hier die Hämolyse auf.

Die qualitative Ähnlichkeit des Hämolysevorganges mit dem Lösen der *Lecithin*suspension durch die Invertseife konnte auch noch auf andere Weise — vgl. Figur 3 — gezeigt werden.

Methode: 25 ccm der nach oben beschriebener Art hergestellten jedoch 10mal verdünnten Erythrozytensuspension, bzw. 25 ccm einer 200 mg % *Lecithin*suspension werden zu 25 ccm Invertseife, die in 0,9 % NaCl-

Lösung, bzw. in Wasser gelöst ist in kleinen, um den Hämolyse, bzw. Lösungspunkt liegenden Konzentrationsstufen, zugegeben und eine halbe Stunde geschüttelt. Im lichtelektrischen Photometer werden die % Lichtadsorption der Gemische bestimmt, welche Werte von 100 abgezogen die prozentuale Abnahme der Hämolyse bzw. der Klärung der Lecithinsuspension ergeben.

Diese beiden Versuche, in welchen einerseits die Inaktivierung der Invertseife durch das Lecithin und dessen Klärung durch dieses Pharmakon, und andererseits dessen Inaktivierung durch eine Erythrozytensuspension und deren Hämolyse als qualitativ ähnliche Vorgänge sich darstellen, zeigen, daß die Invertseife bei der Hämolyse am lipoiden Anteil der Erythrozytenhülle angreift.

Da jedoch die Adsorptionsversuche an der Hefe keinen Aufschluß über eine spezifische Reaktion der Invertseife mit den Hefezellen gaben, wurde weiter versucht, mit einer andern, für die Invertseife charakteristischen, physikalisch-chemischen Eigenschaft, mit der Oberflächenspannungsherabsetzung, die Wirkungsart der Invertseife auf Mikroorganismen zu klären.

Zur Bestimmung der Oberflächenspannung wurde die Abreißmethode angewandt.

Methode: Mit der Kraft, gemessen an der Torsionswaage, die nötig ist, um ein Platinplättchen von der zu untersuchenden Flüssigkeitsoberfläche abzureißen, kann nach einer Formel von *Tominaga* (16) die Oberflächenspannung in Dyn ausgerechnet werden:

$$\text{Oberflächenspannung} = 1,18 \cdot \frac{W_x}{W} - 0,18 \cdot 73 \text{ dyn.}$$

$W_x = K_x - G_x$ = Differenz des Abreißwertes der zu untersuchenden Flüssigkeitsoberfläche (K_x) und des Gewichtes des Platinplättchens mit dem daranhängenden Flüssigkeitstropfen (G_x).

$W = K - G$ = Differenz des Abreißwertes von reinem Wasser (K) und des Gewichtes des Platinplättchens mit dem daranhängenden Wassertropfen (G).

73 Dyn = Oberflächenspannung des reinen Wassers.

Da das Plättchen nicht genau senkrecht von der Flüssigkeitsoberfläche abgerissen wird, ist in der Formel noch eine empirisch gefundene Korrektur angebracht.

In Figur 3 sind verschiedene Dosis-Wirkungskurven im Vergleich zur Oberflächenspannungskurve der Invertseife II gegeben. Diese stellt eine Hyperbel dar, die annähernd der Formel $k \cdot x = \frac{y}{100 - y}$, wobei $k = 3$, folgt.

Auffallend ist nun deren Parallelität zur Dosis-Wirkungskurve der Atmungshemmung von Hefezellen durch die Invert-

seife II. Diese wurde von R. Krüger mit dem Warburg-Apparat in der Pharmakologischen Anstalt der Universität Basel bestimmt und mir freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Die Atmungshemmung scheint direkt der Oberflächenspannung, d. h. der absoluten Konzentration einer Verdünnungsreihe parallel zu verlaufen.

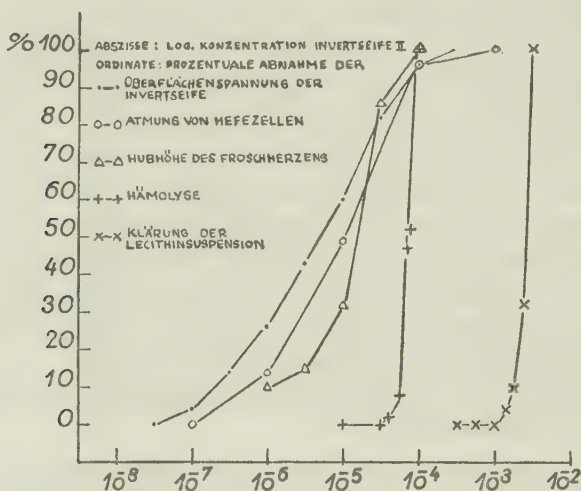


Fig. 3.

Einen ganz anderen Verlauf zeigt die Dosis-Wirkungskurve der Hämolyse durch die Invertseife II. Sie ist, wie oben beschrieben, direkt mit der Reaktion der Invertseife auf Lecithin vergleichbar. Diese Reaktion entspricht nicht einer Verdünnungsreihe.

Die Dosiswirkungskurve der Abnahme der Hubhöhe des Froschherzens durch die Invertseife II (Janner, 17) nimmt eine mittlere Stellung der beiden andern Dosiswirkungskurven ein. Die Abweichung von dem Verhalten der Verdünnungsreihe läßt eine Reaktion der Invertseifen mit Bestandteilen der Herzmuskelzellen in einem mittleren Dosenbereich vermuten.

Nach dem Gibbs'schen Theorem (8) reichert sich ein gelöster Stoff um so mehr an einer Grenzfläche an, je mehr er die Oberflächenspannung seiner Lösung herabsetzt, d. h. daß er auch um so mehr adsorbiert wird.

So wird die zunehmende Atmungshemmung der Hefezellen durch steigende Konzentrationen der Invertseife II auf deren Adsorption beruhen, die von der Oberflächenaktivität abhängt.

Es wurde daher im weiteren untersucht, ob ein direkter Zusammenhang besteht zwischen der bakteriostatischen Wirkung von Invertseifen und deren Oberflächenaktivität.

Nach den Arbeiten von *Gershenfeld* und *Perlstein* (18) und von *Miller* und *Baker* (19) scheint diese von sekundärer Bedeutung zu sein.

In folgenden Versuchen konnte jedoch gezeigt werden, daß die bakteriostatische Wirkung einer homologen Reihe der Invertseife II von ihrer Oberflächenaktivität abhängt.

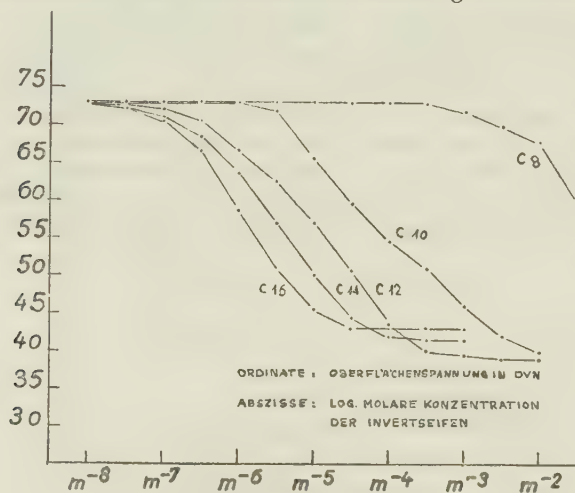


Fig. 4.

Versuch: Es wird die Oberflächenspannung steigender, äquimolarer Konzentrationen der Invertseife II und ihrer homologen Verbindungen mit den Alkylresten C_8 , C_{10} , C_{14} und C_{16} gemessen. Von denselben Verbindungen werden die minimalen, molaren, bakteriostatischen Konzentrationen bestimmt, die in Tabelle III aufgeführt sind. Es handelt sich nicht um Mittelwerte, sondern um Werte, die unter gleichen Bedingungen, am gleichen Tag mit dem gleichen Colibazilleninokulat gefunden wurden. Andere Versuchsansätze gaben immer einen annähernd gleichen Unterschied der einzelnen Werte, auch wenn diese von Versuch zu Versuch größere Schwankungen aufwiesen.

TABELLE III.

Alkylrest der Invertseife	Minimal wirksame, molare Konzentration für Colibazillen
C_8	0,02
C_{10}	0,000 04
C_{12}	0,000 01
C_{14}	0,000 006
C_{16}	0,000 002

Der Vergleich der Figur 4 mit den Werten der Tabelle III zeigt, daß die Invertseife II und ihre homologen Verbindungen mit steigender Kohlenstoffanzahl im Alkylrest oberflächenaktiver und bakteriostatisch wirksamer werden. Sie werden auch besser adsorbierbar, wie oben für die Invertseifen II und III gezeigt wurde. Wegen schlechter Löslichkeit konnten die Adsorptionsisothermen der andern homologen Verbindungen nicht bestimmt werden.

Weiter wurde nun untersucht, ob sich die spezifische Reaktion der Invertseife mit dem Lecithin auch in einem charakteristischen Verlauf der Oberflächenspannungskurve zeige.

Methode: Zu je 5 ccm der Invertseife II, in steigenden Konzentrationen gelöst, werden 5 ccm einer 200 mg % Suspension von Phosphorlipoid (Lecithin), Fett (Erdnußfett), Eiweiß (kristallisiertes Hühnereiweiß) und Kohlehydrat (*Amylum oryzae*) zugegeben und die Oberflächenspannung dieser Gemische gemessen. Zum Vergleich wird aus den entsprechenden Konzentrationen Invertseife II mit 200 mg % Norit adsorbiert und im Adsorbat die Oberflächenspannung gemessen. Die erhaltenen Kurven sind in Figur 5 wiedergegeben.

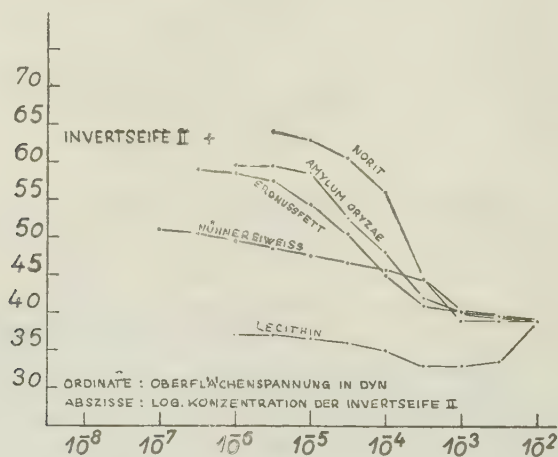


Fig. 5.

Aus dieser ist ersichtlich, daß Kohlehydrat und Fett dem Norit ähnliche Kurven geben, während die Invertseife-Lecithin-Kurve einen ganz andern, eigenartigen Verlauf zeigt. Hühnereiweiß zeigt ebenfalls eine nicht klare Abweichung des Verlaufs.

Die Oberflächenspannung des Invertseife-Lecithin-Gemisches nimmt anfänglich mit steigender Invertseifenkonzentration ab und kommt auf einen Wert, der unterhalb dem der Invertseife und des Lecithins allein liegt. Bei 10^{-6} der Konzentration, bei der der Invert-

seifen-Lecithin-Antagonismus aufhört und die Klärung der Lecithinsuspension beginnt, steigt die Oberflächenspannung an gegen den Wert der Invertseife allein.

Es war nun zu prüfen, ob sich bei der Hämolyse, die, wie oben gezeigt wurde, einer Reaktion des Lecithins mit der Invertseife entspricht, eine ähnliche Kurve der Oberflächenspannung ergibt.

Methode: Es wird die bei den Adsorptionsversuchen beschriebene Erythrozytensuspension hergestellt. Die Invertseifen I, II und III werden in 0,9% NaCl-Lösung gelöst und verdünnt. Je 10 ccm werden zu 10 ccm der Erythrozytensuspension gegeben und eine halbe Stunde geschüttelt. Die Erythrozyten werden abzentrifugiert, und in der überstehenden Flüssigkeit wird die Oberflächenspannung bestimmt.

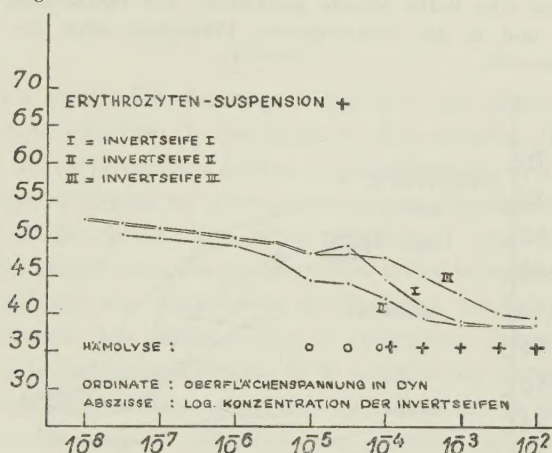


Fig. 6.

Figur 6 gibt die Kurven, in welchen tatsächlich vor dem Eintritt der Hämolyse durch die Invertseife der für die Reaktion Invertseife-Lecithin charakteristische Anstieg der Kurven zu beobachten ist. Allerdings ist die Kurve nicht vollkommen identisch mit der Lecithinkurve. Dies beruht vielleicht auf dem anderen Suspensionszustand der Erythrozyten. Es besteht aber auch eine gewisse Ähnlichkeit mit der Hühnereiweißkurve, so daß möglicherweise eine überwiegende Reaktion mit den Lipoiden mit einer «Adsorptionsreaktion» mit Eiweiß vergesellschaftet ist. Zur Abklärung dieser Frage muß eine weitere Analyse des Kurvenverlaufes erfolgen. Man kann aber doch wohl auf Grund dieser Befunde annehmen, daß es vielleicht bei noch mehr ins einzelne

gehender Analyse der Reaktionsgleichgewichte gelingen wird, die spezifischen Komponenten der Reaktion von den allgemeinen physikalischen Reaktionen abzutrennen. Hierfür spricht, daß die «Lecithin»-ähnliche Reaktion angedeutet auch bei den Hefezellen und bei den Colibazillen vorhanden ist.

Methode: Hefe: 100, 1000, 10 000 mg gewaschene Hefe werden zu je 100 ccm Invertseife, in steigender Konzentration gelöst, zugegeben und eine halbe Stunde geschüttelt. Die Hefe wird abzentrifugiert und in der überstehenden Flüssigkeit die Oberflächenspannung gemessen.

Colibazillen: Aus 24 l mit Colibazillen beimpftem und während 12 Stunden bebrütetem SGAW-Medium werden die Colibazillen auszentrifugiert, gewaschen und in 1000 ccm Wasser suspendiert. Je 50 ccm dieser Colibazillensuspension werden zu 50 ccm Invertseife, in steigender Konzentration gelöst, zugegeben und eine halbe Stunde geschüttelt. Die Colibazillen werden abzentrifugiert, und in der überstehenden Flüssigkeit wird die Oberflächenspannung gemessen.

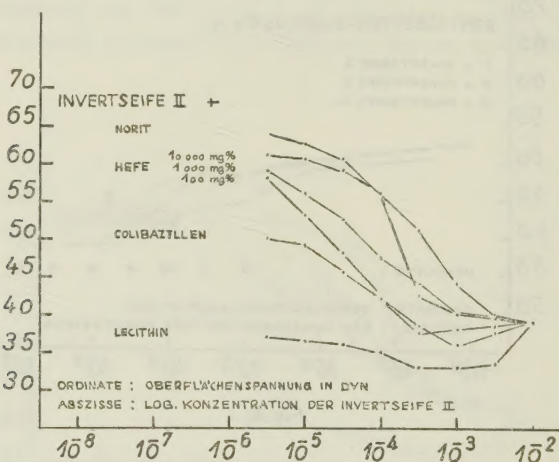


Fig. 7.

Die Kurven der Figur 7 für 1000 und 10 000 mg Hefe zeigen einen der Adsorptionskurve mit Norit ähnlichen Verlauf, während die Kurven für 100 mg Hefe und für die Colibazillen eine Reaktion der Invertseifen mit spezifischen Zellbestandteilen, vielleicht den Zellipoiden, in Betracht ziehen lassen. Wenn auch diese Untersuchungen der Oberflächenspannungsänderung keinen endgültigen Aufschluß des Reaktionsverhaltens geben, so zeigen sie, daß die gleichzeitige Anwendung mehrerer physikalischer Methoden auf das gleiche Problem weitergehende Anhaltspunkte ergeben können.

Zusammenfassung.

Es werden Reaktionsgleichgewichte von Desinfizienzien an Kohle, Lecithin und Zellen untersucht. Diese ergeben, daß Wirkungsunterschiede chemisch und pharmakologisch ähnlicher Desinfizienzien auf ihrer Adsorption beruhen, und daß die Invertseife mit Erythrozyten in gleicher, spezifischer Weise reagiert wie mit einer Lecithinsuspension, während mit Hefezellen Adsorptionsvorgänge in den Vordergrund treten. Oberflächenspannungsbestimmungen der nicht adsorbierten Invertseifenlösung lassen jedoch auch bei den Hefezellen und bei Colibazillen die spezifische Reaktion mit dem Lecithin vermuten.

Résumé.

L'auteur a étudié les réactions d'équilibre des désinfectants en contact avec le charbon, la lécithine et des cellules. Il a été démontré que les différences d'action de désinfectants analogues aux points de vue chimique et pharmacologique s'expliquent par des différences d'adsorption. On a vu également que le savon à cations actifs réagit avec les érythrocytes selon le même processus spécifique qu'avec une suspension de lécithine, tandis que dans le cas de la levure, les phénomènes d'adsorption l'emportent. La mesure de la tension superficielle de la solution de savon à cations actifs non adsorbée montre pourtant que dans le cas de la levure et du colibacille on peut admettre une réaction également spécifique avec la lécithine.

Riassunto.

Vengono studiati gli equilibri di reazione di alcuni disinfettanti sul carbone, la lecitina e le cellule. Da essi risulta che le differenti azioni di alcuni disinfettanti chimicamente e farmacologicamente simili dipendono dal loro adsorbimento e che il sapone invertito reagisce cogli eritrociti nell'istesso specifico modo che con una sospensione di lecitina, mentre con le cellule del lievito i processi di adsorbimento spiccano in primo piano.

Le determinazioni di tensioni superficiali della soluzione di sapone invertito non adsorbita lasciano però supporre anche nelle cellule del lievito e nei colibacilli una reazione specifica con la lecitina.

Summary.

Reaction equilibria were investigated in the presence of carbon, lecithin and cells. Results indicate that differences of effect of chemically and pharmacologically similar disinfectants rest upon their adsorption and that invert soaps react with erythrocytes in the same way as with lecithin suspensions, whereas with yeast cells adsorption predominates. However, determinations of surface tension of invert soap solutions which are not adsorbed also suggest in the case of yeast cells and *bact. coli* a specific reaction with lecithin.

Literatur.

1. Süpfle K., A. Müller, Arch. f. Hyg. 89, 351, 1920. — 2. Herzog R. O., R. Betzel, Zschr. Phys. Chem. 74, 221, 1911. — 3. Bechhold H., R. Reiner, Zschr. f. Hyg. 96, 17, 1922. — 4. Hartmann M., J. Druey, Schweiz. Med. Wschr. 19/20, 558, 1943. — 5. Andersen H., Acta Pharm. et Tox. (Kopenhagen) I, 129, 1945. — 6. Julius H. W., K. C. Winkler, Antonie van Leeuwenhoek 10, 1944/45. — 7. Allgöwer M., Helv. Phys. et Pharm. Acta II, 569, 1944. — 8. Freundlich H., Kapillarchemie 1930. — 9. Fildes P., Brit. J. Exp. Path. 21, 67, 1940. — 10. Baker Z., R. W. Harrison, B. F. Miller, J. Exp. Med. 74, 611 u. 621, 1941. — 11. Porges, O., E. Neubauer, Biochem. Z. 7, 152, 1908. — 12. Long J. H., F. Gephart, J. Am. Chem. Soc. 30, 1312, 1908. — 13. Valette G., R. Cavier, A. Liber, C. r. Soc. Biol. Paris 135, 849, 1941. — 14. Bacq Z. M., E. Ten Voorde, Bull. Soc. r. Science Liège 4, 229, 1943. — 15. Quisno R. A., J. W. Gibby, M. J. Foter, Am. J. Pharmaceut. Ass. 35, 317, 1946. — 16. Tominaga T., Biochem. Z. 140, 230, 1923. — 17. Janner J., Inaugural-Diss. Basel 1947. — 18. Gershenfeld L., D. Perlstein, Am. J. Pharm. 113, 89, 1941. — 19. Miller B. F., Z. Baker, Science 91, 624, 1940.